

Gradient density filter**Publication number:** JP10513113 (T)**Publication date:** 1998-12-15**Inventor(s):****Applicant(s):****Classification:**

- **international:** B01D39/16; B01D39/08; B01J20/28; C07K1/34; B01D39/16;
B01D39/08; B01J20/28; C07K1/00; (IPC1-7): B01D39/16;
C07K1/34

- **European:** B01D39/08; B01J20/28

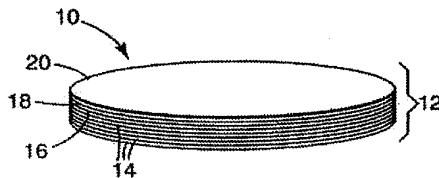
Application number: JP19950523524D 19951219**Priority number(s):** WO1995US16545 19951219; US19950382281 19950201**Also published as:**

- US5472600 (A)
- WO9623572 (A1)
- MX9705645 (A)
- JP3670288 (B2)
- EP0806979 (A1)

[more >>](#)

Abstract not available for JP 10513113 (T)
Abstract of corresponding document: **US 5472600 (A)**

A gradient density filter made from sheets of blown polypropylene microfibers where the microfibers of at least one of the sheets have an effective fiber diameter less than that of the other sheets is described. This filter is especially useful in solid phase extraction processes, particularly those where biological fluids are being analyzed.



Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平10-513113

(43)公表日 平成10年(1998)12月15日

(51) Int.Cl.⁶
 B 0 1 D 39/16
 C 0 7 K 1/34

識別記号

F I
 B 0 1 D 39/16
 C 0 7 K 1/34

A

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 32 頁)

(21)出願番号 特願平8-523524
 (86) (22)出願日 平成7年(1995)12月19日
 (85)翻訳文提出日 平成9年(1997)7月29日
 (86)国際出願番号 PCT/US95/16545
 (87)国際公開番号 WO96/23572
 (87)国際公開日 平成8年(1996)8月8日
 (31)優先権主張番号 08/382,281
 (32)優先日 1995年2月1日
 (33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ミネソタマイニング アンド マニュファクチャリング カンパニー
 アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427,
 セントポール, ポスト オフィス ボックス 33427, スリーエム センター
 (72)発明者 エレフソン, ピーター ジェイ.
 アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427,
 セントポール, ポスト オフィス ボックス 33427
 (74)代理人 弁理士 石田 敏 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 密度勾配フィルター

(57)【要約】

少なくとも3枚のローンポリプロピレン微小繊維で作成された密度勾配フィルターであって、シートの少なくとも1枚は残りのシートより小さい有効繊維直径を有するフィルターについて記述する。このフィルターは、固相抽出工程、特に体液を分析する場合の固相抽出工程特に有用である。

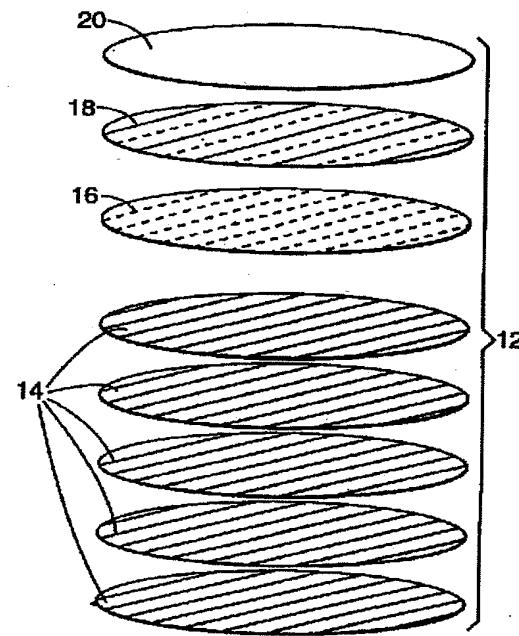


Fig. 2

【特許請求の範囲】

1. 不溶性物質を液体から除去するためのフィルターであって、前記フィルターは上流側と下流側を有し、少なくとも3枚のブローンポリプロピレン微小纖維シートを含み、前記少なくとも3枚のシートは各々それから上流のシートの有効孔直径より小さい有効孔直径を有し、前記ポリプロピレン纖維はすべて約50ダイン/cm未満の臨界湿潤表面張力を有し、前記微小纖維の総平均直径は少なくとも3μmであり、前記微小纖維は結合剤および仕上げ剤を任意に本質的に含まないフィルター。
2. 前記シートのうち少なくとも1枚の微小纖維は平均直径が約3μmであり、前記シートのうち少なくとも1枚の微小纖維は平均直径が約7μmあり、前記シートのうち少なくとも1枚の微小纖維は平均直径が約15μmである請求項1に記載のフィルター。
3. 前記シートのうち少なくとも5枚の平均直径が約3μmである微小纖維を含む請求項2に記載のフィルター。
4. カバー層を更に含む請求項1に記載のフィルター。
5. 前記カバー層はポリプロピレンスクリーンまたはポリプロピレンシートである請求項4に記載のフィルター。
6. a) 固相抽出媒体と、
b) 前記固相抽出媒体の上の、請求項1に記載のフィルターとを含む、固相抽出装置。
7. 前記抽出媒体は粒子の充填床である請求項6に記載の装置。
8. 前記抽出媒体はディスクであり、前記ディスクは吸着粒子が閉じ込められている多孔性纖維ポリマーウェブを任意に含む請求項6に記載の装置。

9. 前記吸着粒子はシリカ、変性シリカ、結合シリカ、活性炭素、アルミナ、変性ポリ(スチレンジビニルベンゼン)、未変性ポリ(スチレンジビニルベンゼン)、および不溶性非膨張性吸着材料で被覆されるように被覆されたあるいは変性されたジルコニアのうちの少なくとも1種であるか、前記ポリマーはポリテトラフルオロエチレンである請求項8に記載の装置。

10. 前記ディスクまたは前記フィルターを保持するために少なくとも1個のリングを更に含む請求項8に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

密度勾配フィルター

技術分野

1. 発明の背景

本発明は、固相抽出工程に特に有用な不織ブローンポリプロピレン微小纖維シートを含むフィルターに関する。フィルターの有効ポアサイズは、深さが増すにつれて縮小する。

背景技術

2. 背景情報

デプスフィルターは何十年間も利用されてきた。米国特許第956,839号は、「直接連結した層であって、各層はその多孔性に関して均質であり、異なる層は細かさの程度が異なる孔を有し、幾つかの層はそれを通る液体の流れの方向を横切って配置されている層」から成る濾過装置について記述している。合成纖維は当時知られていなかったため、有用であると記述されている材料は、セルロース、石綿纖維、綿纖維などの天然の材料である。

デプスフィルターに関するより新しい記述により、デプスフィルターの作成に使用される纖維の範囲が広がった。米国特許第4,701,267号には血液濾過用デプスフィルターについて記述されており、同特許では嵩密度が漸増する多層不織マットがフィルターとして使用されている。このマットは合成纖維、半合成纖維、再生纖維、無機纖維および天然纖維で作成されており、ポリエステルはその例である。不織マットは、平均直径0.3μmから3μm未満の纖維を含む。

米国特許第3,353,682号は、生物学的濾過用多層デプスフィルターについて記述しており、同特許ではフィルターは湿式堆積様式で短纖維から作成されている。代表的な構造は、10～25μmの範囲の孔を有する微細フィルターおよび70～150μmの範囲の孔を有するコースフィルターを含む。これらのフィルターは、「サイズが25μmという小さい粒子、さらに10μmから0.03μm以下の粒子までも」流体から完全に除去することができると言われている。このフィルターの微細濾過部分の上に、サイズが150μmまでの粒子によって微

細フィルターが詰まらないように保護する層がある。それ故、全体の構造は一種のデプスフィルターの役割を果たす。天然繊維のほかにも、ポリプロピレンをはじめとする合成繊維が有用であると言われている。繊維の結合剤について詳細に検討されている。

米国特許第 4,925,572 号は、不織布材料で作成された密度勾配フィルターを使用する血液用白血球フィルターについて記述している。1つの実施態様では、 $30 \sim 50 \mu\text{m}$ のポリブチレンテレフタレート (P B E T) で作成された「ゲルフィルター」より下の、一連の $15 \mu\text{m}$ 、 $10 \mu\text{m}$ および $7 \mu\text{m}$ の P B E T フィルターについて記述している。濾過マットの臨界湿潤表面張力を低減させるには、グラフト、下塗り、または他の「予備状態調整手段」による繊維表面の改質が必要である。

米国特許第 5,338,448 号は、両者の粒砂溶解汚染物質を保持する、カラムの吸材料の上の保護パッドとして「ガードディスク」を使用する固相クロマトグラフィー用カラムについて記述している。このガードディスクは、織布、不織布または膜に組み込まれた吸着クロマトグラフィー材料を含むか、あるいは織物または膜構造そのものに共有結合した固定相官能基を有する織物マトリックスまたは

膜マトリックスを含んでもよい。ガードディスクは吸着材料を含まなくてはならない。保護ディスクは複数の織物層または膜層を含んでもよく、保護ディスクのポアサイズは $0.1 \sim 5 \mu\text{m}$ の範囲である。

発明の開示

発明の概要

簡潔に記述すると、本発明は複数のブローンポリプロピレン微小繊維シートを含み、そのシートのうち少なくとも1枚は、そこから上流の少なくとも1枚のシートの有効孔直径より小さい有効孔直径を有し、ポリプロピレン繊維はすべて約 50 ダイン/ cm 未満の臨界湿潤表面張力を有し、微小繊維の総平均有効直径は少なくとも $3 \mu\text{m}$ である。「臨界湿潤表面張力」 (C W S T) は、多孔性媒体に吸収される液体の表面張力とそのように吸収されない液体の僅かにより高い表面張力との平均値を意味する。C W S T は、一定量 (たとえば、 $2 \sim 4$ ダイン/ cm

) 変化する表面張力を有する一連の液体を多孔性媒体の表面張力に適用して、各液体の吸収または非吸収を観察することによって決定することができる。

本発明のフィルターのシートに使用されるポリプロピレン微小纖維は、好ましくは「バージン」である。言い換えれば、このポリプロピレン微小纖維は、結合材、仕上げ剤、および微小纖維ウェブの形成中または形成後にポリプロピレン纖維にしばしば添加したり被覆したりする他の補助剤を本質的に含まない。しかし、このような纖維は、ポリプロピレン形成工程中に加えられる材料（たとえば、酸化防止剤）を含む。「バージン」ポリプロピレン微小纖維は、ポリプロピレンの合成に固有のもの以外の添加物は全く含まない。

本発明のフィルターは、濾過すべき流体が、血液、血漿、血清、

尿などの体液である場合に特に有用である。このような体液は、このような流体に対して実施すべき分析を妨害する可能性が有る少量の不溶性物質をしばしば含んでいる。このような流体は、正確に分析するためには「純粋」（すなわち、不溶性物質を含まない）でなければならないため、医学分析や化学分析を実施する者にとって、このような不溶性物質の除去は永続的な問題である。

本発明のフィルターが特に有用な1つの分析は固相抽出である。「固相抽出」は、固定化された固体粒子への吸着によって流体から1種以上の可溶性分析物を除去または単離することを意味する。通常、このような固相抽出は分析物を吸着することができる粒子の充填床を使用して実施される。しかし、最近では、粒子が多孔性纖維ポリマーウェブまたはガラス纖維ウェブに閉じ込められるディスクを使用して固相抽出を行う。しかし、不溶性物質を含む流体（たとえば、体液）がこのようなディスクを通過する場合、不溶性物質はウェブの孔にしばしば閉じ込められ、その結果、ディスクが流体を通過させる能力が低下する（すなわち、圧力低下が増大する）。

都合の良いことに、本発明のフィルターの死体積は非常に少ない（たとえば、約40 μ L）。したがって、本発明のフィルターは、必要とする溶出体積に負の影響をほとんど及ぼさない。

図面の簡単な説明

F I G. 1は、本発明の密度勾配ポリプロピレンフィルターの1つの実施態様を示す、大きく拡大した斜視図である。

F I G. 2は、F I G. 1の多層ポリプロピレン密度勾配フィルターの大きく拡大した組立分解図である。

F I G. 3は、本発明の多層ポリプロピレン密度勾配フィルターの1つの実施態様が固相抽出ディスクまたはカートリッジの上に

配置されている固相抽出ディスクカートリッジの大きく拡大した斜視図である。

F I G. 4は、F I G. 3の固相抽出ディスクカートリッジの大きく拡大した組立分解図である。

発明を実施するための最良の形態

好ましい実施態様の詳細な説明

F I G. 1およびF I G. 2について説明する。フィルター10は複数のプローンポリプロピレン微小纖維シート12を含む。効率を最大に高めるために、下流シート14または16のうち少なくとも1種は、そこから上流の少なくとも1種のシート（それぞれ16または18）の有効孔直径より小さい有効孔直径でなければならない。この密度勾配特性により、均一な孔直径を有するフィルターより優れた改良された性能が得られる。

好ましくは、フィルター10は少なくとも3枚のシート（14、16、および18）を含み、その各々が他の2枚のシートの有効孔直径と異なる有効孔直径を有する。所定のシートの有効孔直径は、とりわけ、シートを構成する纖維の有効直径の関数である。シート14、16および18は、有効孔直径が縮小する順序で、言い換えば、纖維直径が縮小する順序で、（上流から下流に）好ましく配列されている。要望に応じて、シート14、16、または18のいずれも複数、使用することができる。様々な纖維直径のシート12を積層して本質的単位構造、すなわちフィルター10を形成する。積層は、ニップロールやハンドプレスを含め、技術上周知の多数の手段のいずれかによって遂行することができる。

フィルター10の複数のシート12に、カバー層20を加えることができる。カバー層20は、好ましくはシート12のいずれより

も堅い。カバー層20は、輸送中、取扱い中、および／または使用中に、フィルター10の（または、フィルター10が組み込まれる固相抽出装置の）全体としての完全性を維持するのに役立つ。好ましくは、カバー層20は、フィルター10（または、フィルター10が組み込まれる固相抽出装置）が高度の化学的不活性を維持するようにポリマー材料で作成する。最も好ましくは、カバー層20は、シート12と同じポリマー（すなわち、ポリプロピレン）で作成する。カバー層20は、スクリーン、スクリム、あるいは膜を含め、様々な形をとることができるが、これらに限定されない。好ましくは、選択される形は、カバー層20をシート12と一緒に積層することができる。好ましいカバー層20は、西半球外では商品名TektonTMで知られているTyparTM membrane (Reemay Inc.; Old Hickory, TN) などのスパンボンデッドポリプロピレン膜である。TyparTM 3801シートは、剛性が高いため、特に有用であることが判明している。さらに、膜をカバーシート20として使用する場合、この膜は補足的濾過能力（すなわち、濾過すべき液体中の比較的粗い材料に対する）を提供することができる。FIG. 1およびFIG. 2に、たとえば、有効直径約15μmのポリプロピレン微小纖維のシート18を1枚、たとえば、有効纖維直径約7μmのポリプロピレン微小纖維のシート16を1枚、およびたとえば、有効直径約3μmのポリプロピレン微小纖維のシート14を5枚含む本発明のフィルターの実施態様を示す。もちろん、シート12の他の配列も可能であり、且つ本発明の範囲内である。たとえば、ある用途では、フィルター10の性能に悪影響を及ぼさずにシート16（ポリプロピレン微小纖維の有効直径が約7μmである）を除去することができる。さらに、たとえば、有効直径が13μm、8μm、および4μm（またはこのような他の組合せ）のシートの配列が有効なこと

もある。

ブローン微小纖維シート12は、技術上周知の方法に従って作成することができる。たとえば、V. A. Wente, "Superfine Thermoplastic Fibers," Industrial and Engineering Chemistry, vol. 48, no. 8, 1342-46 (Aug. 1956) およびV. A. Wente et al., "Manufacture of Superfine Organic Fibers," Navy Research

Laboratory Report 4364 (May 25, 1954) を参照されたい。

シート 12 の作成に有用なポリプロピレン樹脂は、Exxon Chemical Co. (Houston, TX) から Grade PP3505G として入手できるのをはじめとして、様々な起源から入手できる。微小纖維シート 12 を作成するための樹脂の処理中に、結合剤、仕上げ剤、あるいは纖維形成工程中によく使用される他の補助剤を添加することは、好ましくは徹底的に避ける。当業者に理解される通り、使用中にフィルター 10 から浸出する可能性があるあらゆる汚染物質が、濾過された液体（すなわち、溶出液）に対して実施する分析を妨害する可能性がある。したがって、好ましくは、このような浸出可能な材料の添加を避ける。

シート 12 の微小纖維の CWS T は約 50 未満であり、好ましくは約 45 未満であり、さらに好ましくは約 40 未満である。最も好ましくは、シート 12 の微小纖維の CWS T は、未処理ポリプロピレンの CWS T に等しいか、等しいに非常に近い（すなわち、25 ダイン/cm）。このような微小纖維で作成されたウェブ（すなわち、シート）は、そのサイズ、寸法、および／またはアフィニティに基づいて、分析物を含むと考えられる流体から不溶性物質を除去するのに有効である。大抵の分析物は、未処理ポリプロピレンに対してアフィニティがなく、したがって微小纖維間の孔を通過する。

フィルター 10 を作成するためには、フィルター 10 に所望の勾

配を与えるのに必要な有効纖維直径を有するシート 12 を、膜、スクリーン、スクリムなどの形のカバー層と任意に一緒に段積み構造で積層し、約 8 ~ 約 80 m / 分の速度で一連の円筒形に延伸する。この積層段積み構造をストリップに切断し、これから、たとえばダイを使用して、所望のサイズおよび形のフィルター 10 を切り取る。

シート 12 の微小纖維の総平均有効直径は少なくとも約 3 μm であり、好ましくは少なくとも約 3.25 μm であり、さらに好ましくは少なくとも約 3.5 μm であり、最も好ましくは少なくとも約 4 μm である。（総平均有効纖維直径を算出するには、個々のシートの各有効纖維直径を合計し、シート総数で割る。）シート 12 の総平均有効纖維直径が少なくとも約 3 μm より大きいにも拘わらず

、流体、特に体液から不溶性物質を除去するフィルター10の能力を傷つけないことが確認されている。

本発明のフィルターの長所は、その厚さが一般に使用される密度勾配フィルターより薄いことである。たとえば、本発明のフィルターの代表例は厚さ約2.5mmである(その体積の少なくとも90%は空気である)。このように厚さが薄いことは、フィルターの固有の死体積の量を減少させるのに役立つ。それ故、本発明のフィルターを抽出媒体と組み合せて使用する場合、本発明のフィルターは必要な溶出体積に負の影響をほとんど及ぼさない。

本発明のフィルターは、濾過すべき流体が体液である場合に特に有用である。これらの流体は、これらの流体に対して実施する分析を妨害する可能性がある少量の不溶性物質をしばしば含む。本発明のフィルターは、このような不溶性物質を除去する場合に、ガラス繊維密度勾配フィルターとほぼ同じくらい有効であった。さらに、本発明のフィルターは死体積が非常に少なく、フィルターを通って濾過された流体に対して実施する定量分析の確度を高めるのに役立

つ。

次に、FIG. 3およびFIG. 4について説明する。固相抽出ディスクカートリッジ30は、入り口開口部32および出口開口部34を含み、その間に試料貯蔵所36がある。カートリッジ30は、ポリプロピレン、ポリエチレン、ガラス、ナイロン、あるいは型に加工処理することができ、化学的に不活性であり、一般的な実験溶媒に抵抗性であり、且つ酸条件および塩基条件で抵抗性であるよく使用される任意の材料を含め、様々な材料で作成することができる。ポリプロピレンは好ましい材料である。試料貯蔵所36の底部に、基底部38がある。基底部38は固相抽出ディスク40を支持する。任意に、カートリッジ30の作成に使用するものと同じ種類の材料で作成された不織シート(表示せず)を基底部38とディスク40の間に配置してディスク40を支持し、ディスク40の表面全体の一様な流動分布を可能にしてもよい。好ましい種類の不織シートは、Vera tecTMポリプロピレンシート(Veratec Co.:Walpole, MA)である。抽出ディスク40の好ましい種類は、吸着粒子が閉じ込められている繊維性ポリマー膜である

が、吸着粒子が閉じ込められているガラス纖維膜も有用と考えられる。特に有用な吸着粒子の種類はシリカ、変性シリカ、接着シリカ、活性炭素、変性ポリ(ステレンジビニルベンゼン)、未変性ポリ(ステレンジビニルベンゼン)、およびアルミナである。

その他の有用な吸着粒子は、米国特許第 5,279,742 号に記載されているものである。同文書では、有用な微粒子材料は、水や酢酸エチルなどの水性液体および有機液体に実質的に不溶性である粒子を含むと言われている。1.0 g 以下の微粒子を水性液体または有機液体 100 g に溶解し、その微粒子を 20°C で混合する。この微粒子材料は、ポリジビニルベンゼンなどの有機ポリマー、あるいはコ

ポリマー、好ましくはステレンとジビニルベンゼンのコポリマー(75-25~99.00-0.01)、あるいはポリ(メト)アクリル酸エステル類、およびそれらの誘導体、特に、スルホン化基やアミノ化基などのイオン交換基を含むもののうちの少なくとも 1 種であってもよい。

任意に使用することができる適当な吸着粒子としては、水性不溶性吸着材料、有機不溶性吸着材料、非膨張性吸着材料、あるいは不溶性の非膨張性吸着材料のコーティングを提供するように変性することができる表面(外側または内側またはその両者)で被覆することができるあらゆる粒子が含まれる。このような粒子としては、シリカ、アルミナ、チタニア、ジルコニアなどの無機酸化物、および有機基が共有結合している他のセラミックスなどがある。好ましい無機酸化物微粒子材料は、シリカおよびジルコニアであって、これは市販されているためであり、シリカは、様々な疎水性リガンドおよび親水性リガンドに結合したり、その表面にコーティングすることが容易なため、特に好ましい。

不溶性の、水非膨張性吸着コーティングは、一般に約 100 nm までの 1 分子単層の範囲の厚さを有する。被覆表面を有するこのような粒子は、技術上周知である。たとえば、Synder and Kirkland, "Introduction to Modern Liquid Chromatography," 2d ed., John Wiley & Sons, Inc. (1979) および H. Figge et al.,

"Journal of Chromatography", 351, 339-408 (1986) を参照されたい。共有結合

した有機基、好ましくはシアノプロピル、シアノヘキシル、フェニル、C₂（エチル）、C₄（ブチル）、C₈（オクチル）、およびC₁₈（オクタデシル）基を有する改質シリカ粒子、シリカ粒子などが記載されている。

無機粒子に塗布することができるコーティングは、架橋シリコ

ン、ポリブタジエンなどの不溶性非膨張性ポリマーの薄い機械的コーティングか、様々な鎖長（たとえば、C₂、C₄、C₈、およびC₁₈）の脂肪族基などの共有結合した有機基および脂肪族基および芳香族基を含む有機基のいずれであってもよい。好ましい基としては、アミノ、ヒドロキシル、フェニル、シクロヘキシル、およびコーティングの極性を変化させる他の基などがある。この場合、支持粒子は、主として有機コーティングのキャリヤーの役割をする。このように被覆された粒子はたくさん市販されている。たとえば、C₁₈結合相シリカは、Alltech (Deerfield, IL) やVarian Sample Preparation Products (Harbor City, CA) から入手できる。コーティングの化学組成を変化させると、分子の分離のおよび極性の選択性が得られる。

任意に、保持リング42を抽出ディスク40上に直接設置することができる。保持リング42は、形に加工することができ、化学的に不活性であって、様々なpHで安定であり、且つ一般的な実験溶剤に抵抗性である任意の材料で作成することができる。ポリプロピレン、ポリフルオリエチレン、ポリエーテルエーテルケトン類、およびポリクロロフルオロエチレンを含め、様々な材料がこれらの基準を満たすが、本発明のフィルターのカバー層に関して前述した理由と同じ理由で、ポリプロピレンが好ましい。

保持リング42の真上に、密度勾配ポリプロピレン微小纖維フィルター44がある。フィルター44は、前述の構造のいずれを有することも可能である。フィルター44の最上部の真上に、第2の保持リング（表示せず）があってもよい。この第2に保持リングは、保持リング42と同じ一般構造のものであり、同じ材料で作成しても、異なる材料で作成してもよい。膜40を通過する液体は、出口開口部34を囲む先端46を通ってカートリッジ30を出る。任意に、受け容器（表示せず）をカートリッジ30の下に設置して、そ

こから出る濾過された液体を捕らえることができる。

当業者は、本発明の密度勾配フィルターは、吸着粒子を詰めたカラムと一緒に使用した場合にも有用なことを理解するであろう。言い換えれば、本発明のフィルターの場合、吸着粒子を素通りする液体に対して実施される抽出を妨害する可能性のある不溶性物質を選別するために、吸着粒子を抽出ディスク40に閉じ込める必要がない。

本発明の目的および長所を、以下の実施例によってさらに例証する。これらの実施例に具陳される特定の材料およびその量、ならびに他の条件および詳細を使用して、本発明を不当に制限してはならない。

産業上の利用可能性

実施例

実施例1：アミトリプチリンおよびノルトリプチリンの比較流れ時間および回収
C-2 EmporeTM 7 mm/3 mL固相抽出ディスクカートリッジ（3M New Product
s Dept. ;St. Paul, MNから実験ベースで入手可能）に市販のフィルター装置（表
1参照）を取り付けた。

各カートリッジにヒト血漿1.0mLおよび0.01M K₂HPO₄pH7.
0緩衝液（「緩衝液A」）0.5mLを加え、アミトリプチリン125ngおよびノルトリプチリン125ng（各々、Sigma Chemicals Inc. ;St. Louis MOから入手可能）と混合した。各混合液を、38.1cmHg減圧下でフィルターおよびディスクを通過させた。「流れ時間」を、減圧した時から試料の最後の1滴がカートリッジの先端を離れた時までの所要実時間として測定した。

フィルターおよびディスクを75:25(v/v)水ーアセトニト

リル(ACN)溶液で洗浄し、同じ減圧下で5秒間風乾した。ACN—緩衝液A—メタノールの68:15:17(v/v/v)混合液0.2mLで2回、ディスクから薬物を溶出した。内径15cm×4.6mmのシアノプロピルカラム(Supelco Inc. ;Bellefonte, PA)を取付けたWaters Instruments Model 486 HPLC(Waters Corp. ;Milford, MA)を使用し、カラム温度30°C、2.0mL/分の60:25:15(v/v/v)のACN—緩衝液A—メタノールの移動相を使用して、液体

クロマトグラフィーで各薬物の回収率を測定した。各薬物の存在および量を、検出感度0.005AUFSで、215nmにおけるUV吸光度によって検出した。回収率は、計器に直接注入した同量の各分析物を基準にして求めた。

各フィルターデザインについて2回実行した。結果を下記の表1に示す。

表1：ヒト血漿中三環系抗鬱薬

フィルタ 一	流れ時間 (分)	回収率	
		アミトリ ブチリン	ノルトリ ブチリン
1	0.87	83.4	50.8
	0.88	77.8	40.9
2	6.42	69.8	52.0
	4.65	81.6	68.6
3	詰まつた	--	--
	詰まつた	--	--
4	詰まつた	--	--
	詰まつた	--	--
5	4.08	94.6	81.1
	4.17	92.2	82.6
6	0.92	90.3	78.4
	0.95	88.7	76.9
7	詰まつた	--	--
	2.28	93.5	84.7
8	0.98	94.8	81.7
	1.00	106.7	100.8
9	0.97	100.5	93.2
	0.98	99.5	93.8
10	1.00	99.5	93.3
	1.13	96.9	88.7
11	1.03	127.3	124.2
	1.30	101.6	94.2

- 1) Cellulose Thimble (Whatman, Inc.; Fairfield, NJ)
- 2) 有効孔サイズ0.45μmのナイロンフィルター(Chrom Tech, Inc.; Apple Valley, MN)
- 3) 有効孔サイズ0.2μmのナイロンフィルター(Chrom Tech)
- 4) 有効孔サイズ0.2μmの上の有効孔サイズ0.45μmのナイロンフィルター(両者ともChrom Tech)
- 5) 定性濾紙 Qualitative paper (Whatman)
- 6) 無灰濾紙 Ashless paper (Whatman)
- 7) 硬化濾紙 Hardened paper (Whatman)
- 8) 直径20μmのLiquid Disk Filter (LDF) 509Aスパンポンデ

ッドポリプロピレンウェブ(3M; St. Paul, MN)から作成した離層シート 1 枚

9) 直径 $7.5 \mu\text{m}$ の LDF 505A メルトプローンプロピレンウェブ

(3 M) から作成したシート 1 枚

10) 直径 $3.4 \mu\text{m}$ の LDF 503A メルトプローンポリプロピレンウェブ (3 M) から作成したシート 1 枚

11) Liquid Disk Filter 503A から作成した別のシート上の Liquid Disk Filter 505A から作成したシート 1 枚(両者とも 3M)

表 1 のデータから、被験材料の中で、プローン微小繊維フィルターが最も首尾一貫した流れおよび分析物回収を与えることがわかる。

実施例 2：フィルター材料の比較

10 mm / 6 mL C-18 EmporeTM 固相抽出ディスクカートリッジ (3M) 内のディスクの上に様々なフィルターを取付けた。試料を適用する前に、各フィルター-ディスク構造物をメタノールで、続いて水で状態調整した。各試料 (すなわち、未希釀ヒト血清および尿) 約 3.0 mL を、25.4 cmHg 減圧下でフィルター-ディスク構造物を通過させ、実施例 1 の場合と同様に流れ時間を測定した。

結果を表 2 に示す。

表2：様々なフィルターを通過する流れ時間

フィルター	6 mL カートリッジ、 試料体積 3 mL の流 れ時間 (秒)		
	水	尿	血清
なし	43	235	308
934-AH ガラス繊維 ¹	--	43	125
GF/B ガラス繊維 ¹	--	75	201
GF/D ガラス繊維 ¹	--	52	164
70 mil ポリビニリデンフルオリド ²	--	272	211
53 mil ポリテトラフルオロエチレン ²	--	241	458
20 mil ポリエチレン#4900 ²	--	296	260
60 mil ポリエチレン#X-4920 ²	--	107	340
1.0 mL 高密度ポリエチレン#X-4896 ² 、粗面が上	--	詰まつた	296
1.0 mL 高密度ポリエチレン#X-4896 ² 、粗面が下	--	276	410
ポリエチレンフリット ³	--	150	252
多孔性ポリプロピレンシート ⁴	--	312	296
焼結ポリプロピレンフリット ⁵	--	132	246
粒子を含まない Empore TM 油およびグリースディスク ⁶	--	72	213
C-18 粒子を加えた Empore TM 油およびグリースディスク ⁷	--	58	169
最上層と数層の Liquid Disk Filter 503A ⁷ の内部ポリプロピレン層		44	92

- 1) Whatman, Inc. から入手可能
- 2) Porex, Inc. (Atlanta, GA) から入手可能
- 3) Varian, Inc. (Harbor City, CA) から入手可能
- 4) Veratec Co. から入手可能
- 5) Evergreen Co. (Los Angeles, CA) から入手可能
- 6) 実験ベースで 3M New Products Dept. から入手可能
- 7) 3M から入手可能

表2から、3mLのヒト血清または尿の場合、ポリプロピレン繊維で作成したフィルター (3M Liquid Disk Filtersの内部層を構成するような) は、ガラス繊維フルターと同等以上の流量を与えることがわかる。

実施例3：ブローンポリプロピレン微小纖維とガラス微小纖維を用いた Empore^T
M Extraction Disk からの薬物回収の比較

薬物抽出および回収に及ぼすフィルターの影響を試験するために、C-8 Empore^T 7 mm/3 mL 固相抽出カートリッジ (3M) のディスクの上にフィルターを取り付けた。フィルターは、(1) 有効直径 10 μ m の不織ブローンポリプロピレン微小纖維シート 8 枚、頂上にある有効直径 3.4 μ m の不織ブローンポリプロピレン微小纖維シート 5 枚の構造物 (3M Filtration Products; St. Paul, MN)、(2) 「GD 1M」と呼ばれる密度勾配ガラス微小纖維フィルター (Whatman, Inc.)、および (3) 「GF/D VA」と呼ばれる密度勾配ガラス微小纖維フィルター (Whatman, Inc.) であった。

脱イオン (D I) 水 1.0 mL と 0.01M K_2HPO_4 pH 4.5 緩衝液 (「緩衝液 B」) 0.5 mL 中にベラパミル (Sigma Chemicals)、フレカイニド (3M)、メキシレチン (米国薬局方、Rockville, MD) を各々 0.4 μ g 含む溶液を、38.1 cmHg 減圧下でカートリッジを通過させた。フィルター抽出膜構造物を 30:70 (v/v) ACN-水混合液 0.25 mL で 1 度洗浄し、水 0.25 mL で 1 度洗浄した。

抽出された薬物を、30:30:40 (v/v/v) の ACN-緩衝

液 B-メタノール溶出溶剤 0.2 mL で 2 度、膜から溶出した。実施例 1 の記載と同様、40°C で、2.0 mL/分の 35:60:5 (v/v/v) ACN-緩衝液 B-メタノールの移動相および SupelcoTM PCN ガードカラム付き SupelcoTM LC8 DB カラムを使用して、液体クロマトグラフィーで回収率を測定した。各薬物の存在および量を、214 nm における UV 吸光度で検出した。

結果を以下の表 3 に示す。

表3：薬物回収に及ぼすフィルターの影響

送達	反復	平均回収率		
		ペレパ ミル	フレカ イニド	メキシ レチン
直接注入(標準)	2	100.0	100.0	100.0
フィルターなし (比較)	4	92.6	88.5	90.5
ポリプロピレン	4	90.6	89.3	91.2
GD1M	4	100.9	96.7	93.7
GF/D VA	4	94.2	92.2	91.1

表3のデータから、密度勾配ポリプロピレンフィルターは密度勾配ガラスフィルターと同様、固相抽出膜からの定量的薬物回収に悪影響を及ぼさないことがわかる。

実施例4：ローンポリプロピレン微小纖維フィルターの作成

Wente, "Superfine Thermoplastic Fibers," Industrial and Engineering Chemistry, vol. 48, 1342-46(1956) およびWente et al., "Manufacture of Superfine Organic Fibers," NRL Report No. 4364 (May 25, 1954) に記載の方法に従って、幾つかのローンポリプロピレン微小纖維シート試料を作成した。表4に記載の通りに、Grade PP3505G ポリプロピレン (Exxon Chemical Co.) をメルト

ローン微小纖維層に加工処理した。最小直径纖維の場合、多層フォーマットに関する説明を与えた。有効孔直径は、C. Y. Chen, "Filtration of Aerosols by Fibrous Media," Chem. Rev., 55, 595-623(1955) の方法に従って測定した。

表 4

繊維試料	有効繊維直徑 (μm)	有効孔直徑 (μm)	厚さ (mm)	基礎重量 (g/m^2)
1	3.0	11.5	0.35	22
2	6.6	29.9	1.21	49
3	7.0	24	0.53	50
4	8.3	21.8	0.52	52
5	14.5	34.7	0.45	53
6	15.8	45.5	0.57	50
7	21.4	65.4	0.65	51
8	22.2	52.9	0.85	101
9	22.6	61.1	0.79	77
10	25.6	96.3	0.95	50
C-1 ^a	3.4	--	--	--

^a Liquid Disk Filter 503A (3M Filtration Products)から作成した離層シート1枚を使用した比較例

実施例5：流れ時間に対するフィルター配置（繊維直径および層数）の影響

密度勾配フィルターの最適配置を決定するために、幾つかの配置の流れ時間を試験した。実施例4に記載の通りに作成したブローンポリプロピレン微小繊維シートの層を C-18 EmporeTM 7 mm/3 mL固相抽出ディスクカートリッジ内に設置した。

各フィルター抽出膜構造物を、38.1 cmHg減圧下、ヒト血漿1.0 mLおよび緩衝液0.5 mLで処理した。実施例1に記載の通りに流れ時間を測定した。

結果を下記の表5に示す。

表 5 : フィルター配置

配置	下記の有効直径の纖維を有するシート数					流れ時間 (秒)
	3.4 μm	6.6 μm	7.0 μm	15.0 μm	22.5 μm	
1	0	0	0	0	0	681
2	0	1	0	0	0	99
3	5	0	0	0	0	80
4	5	1	0	0	0	89
5	0	0	0	1	0	326
6	0	1	0	1	0	103
7	5	0	0	1	0	85
8	5	1	0	1	0	87
9	0	0	0	0	0	686
10	0	0	1	0	0	104
11	5	0	0	0	0	83
12	5	0	1	0	0	78
13	0	0	0	1	0	473
14	0	0	1	1	0	105
15	5	0	0	1	0	78
16	5	0	1	1	0	78
17	0	2	1	0	0	88
18	0	2	0	1	1	87
19	0	0	2	1	1	97
20	5	1	1	0	0	78
21	5	0	2	0	0	78
22	5	2	0	0	0	85
23	5	1	0	1	0	82
24	5	0	1	1	0	73
25	5	0	2	1	0	82
26	5	2	0	1	0	90
27 ^a	--	--	--	--	--	78
28 ^b	--	--	--	--	--	76

^a 実施例 3 のポリプロピレンフィルターと同じ^b GD1M ガラスフィルター (Whatman).

実施例 6 : 密度勾配フィルターを含む場合と含まない場合の血清流量

次の通りに、実施例 4 に記載のブローンポリプロピレン微小纖維シートで 3 層

の密度勾配フィルターを作成した。有効直径 $15 \mu\text{m}$ の纖維を有するシート1枚を、有効直径 $7 \mu\text{m}$ の纖維を有するシート1枚の上に置き、これを有効直径 $3.4 \mu\text{m}$ の纖維を有するシート5枚の上に置いた(以後、「1/1/5フィルター」と呼ぶ)。

1/1/5 フィルターから円形区画を切断し、7 mm/3 mL C-18 EmporeTM 固相抽出ディスクカートリッジ内に設置した。新鮮な血漿および3日間冷蔵しておいた血漿を使用して、緩衝液Aで希釈したヒト血漿1.0 mLが、フィルターを含む抽出ディスクおよびフィルターを含まない抽出ディスクを通過する流れ時間を、38.1 cmHg 減圧下で測定した。冷蔵試料はかなり粘性であり、新鮮な試料よりもフィブリンおよび微生物含有量が多かった。結果を下記の表6に示す。

表 6

試料 番号	新鮮血漿流れ時間 (秒)		冷蔵血漿流れ時間 (秒)	
	フィルタ ー	フィルタ ーなし	フィルタ ーなし	フィルタ ーなし
1	60	138	73	658
2	61	140	71	662
3	60	141	73	737
4	63	137	75	685
平均	61	139	73	686

表6のデータから、抽出ディスクの上に1/1/5 フィルターを使用したとき、新鮮な血漿-緩衝液混合液の流れ時間は128%改善し、冷蔵血漿-緩衝液混合液は840%改善することがわかる。

実施例7：カバー層の効果

抽出中および溶出中に、1/1/5 フィルター(実施例6を参照)を適所に維持するのに役立つ、幾つかのカバー層を比較した：(1) ポリプロピレンスクリーン(Internet Co.; New Hope, MN)、(2) TyparTM 3801 スパンボンデッドポリプロピレン膜、(3) EmporeTM 7 mm/3 mL 固相抽出ディスクカートリッジとして市販されている成形ポリプロピレンリング。1/1/5 フィルターは、EmporeTM 7 mm

/3 mL 固相抽出ディスクカートリッジと一緒に使用したほかにも、C-18結合シリカ微少粒子が捕らわれているガラス纖維ディスクを含むSPEC™・3ML 固相抽出装置 (Ansys Co.; Irvine, CA) とも一緒に使用した。

新鮮なヒト血漿試料 (1. 0mL、緩衝液 0.5mLで希釈) を、38. 1cm Hg 減圧下で、固相抽出ディスクを含む、フィルターを含むカラムおよびフィルターを含まないカラムを通過させた。結果を下記の表7に示す。

表7：1/1/5 フィルターの性能

試験	様々な配置の流れ時間 (秒)					
	1	2	3	4	5	6
A	詰まつ た ⁷	詰まつ た ⁷	86	13	67	67
B	詰まつ た ⁷	詰まつ た ⁷	85	12	74	67
C	詰まつ た ⁷	詰まつ た ⁷	86	13	73	74

- 1) フィルターを含まない Empore™カートリッジ。
- 2) フィルターを含まない SPEC™カートリッジ。
- 3) フィルターを含む Empore™カートリッジ、カバー層としてのポリプロピレンスクリーン。
- 4) フィルターを含む SPEC™カートリッジ、カバー層としてのポリプロピレンスクリーン。
- 5) フィルターを含む Empore™カートリッジ、カバー層としての成形ポリプロピレンリング。
- 6) フィルターを含む Empore™カートリッジ、カバー層としてのスパンボンデッドポリプロピレン膜。
- 7) 15分後に、血漿-緩衝液約1mLがカートリッジ内に残存していた。

表7のデータから、フィルターは固相抽出ディスクの詰まりを予防し、フィルターをカバーしたり維持したりする幾つかの装置および配置は、満足な流れ時間を損なわないことがわかる。

実施例8：カバーのあるフィルターを使用した薬物回収率

脱イオン水 1 mL 当たり 10.0 μ g のジアゼパムおよびノルジ

アゼパム（両者とも Sigma Chemicals から入手）を含む貯蔵溶液を調製した。ヒト血漿 1.0 mL または脱イオン水 1.0 mL の試料を 0.05M pH 5.0 の酢酸アンモニウム緩衝液（「緩衝液 C」）0.5 mL で希釈し、各試料の総体積が 1.55 mL になるように、貯蔵溶液 50 μ L を添加した。

試料を、38.1 cmHg 減圧下で、(1) TyparTM 3801 スパンボンデッドポリプロピレンウェブ、ポリプロピレンスクリーン、あるいは標準 EmporeTM ポリプロピレンリングのカバー層がある、表 8 で「フィルター B」と呼ばれる 1/1/5 フィルター（実施例 6 を参照）か、(2) 表 8 で「フィルター A」と呼ばれる、有効纖維直径が 3.4 μ m のブローンポリプロピレン微小纖維シート 5 枚の上の有効纖維直径が 10 μ m のブローンポリプロピレン微小纖維シート 8 枚を含むフィルターのいずれかを含む、C-18 EmporeTM 7 mm/3 mL 固相抽出ディスクカートリッジを通過させた。この抽出ディスクを 25:75 ACN-水溶液 0.5 mL で洗浄し、メタノール 0.2 mL で 2 度溶出し、この溶出液を更に 0.4 mL の緩衝液 C と共に攪拌した。

15 cm × 4.6 cm の SupelcoTM LC-18DB カラムおよび SupelcoTM C-18 ガードカラムを取付けた Waters Instruments Model 486 HPLC をカラム温度 30°C で使用して、溶出液中の各薬物の量を液体クロマトグラフィーで測定した。55:45 (v/v) の ACN-緩衝液 C 溶液の移動相を 2.0 mL/分でポンピングした。感度 0.005 AUFS で、242 nm における UV 吸光度によって薬物を検出した。結果を下記の表 8 に示す。

表 8：ヒト血漿および脱イオン水からの薬物の回収率

フィルター構造	血漿		脱イオン水	
	ジアゼパム	ノルジアゼパム	ジアゼパム	ノルジアゼパム

なし	--	--	90	91
フィルター A	94	54	--	--
フィルター B	94	55	--	--
+ リング				
フィルター B	94	54	98	98
+ スクリーン				
フィルター B	94	52	99	100
+ 膜				

表8のデータから、固相抽出ディスクおよびカバー層を含む密度勾配フィルターを含む固相抽出カラムから、2種の薬剤の優れた回収が得られることがわかる。(血漿からのノルジアゼパムの溶出は、pH依存性のため、定量的ではなかつた。)

実施例9：死体積／残留液の比較

ポリプロピレンスクリーンおよび TyparTM スパンボンデッドポリプロピレンウェブによって適所に維持されたフィルターを含むカートリッジの死体積を測定して、フィルターを含まないカートリッジの死体積と比較した。フィルターを含まない C-18EmporTM 7 mm/3 mL 固相抽出ディスクカートリッジ、ポリプロピレンスクリーンカバー層を有する 1/1/5 フィルターを含む C-18EmporTM 7 mm/3 mL 固相抽出ディスクカートリッジ、および TyparTM 膜カバー層を有する 1/1/5 フィルターを含む C-18EmporTM 7 mm/3 mL 固相抽出ディスクカートリッジを作成した。

各カートリッジの乾燥重量を測定後、38. 1 cmHg 減圧下で、メタノール O. 25 mL に続いて脱イオン水 O. 5 mL をディスクを通過させることによって各カートリッジを状態調整し、2秒

間減圧のままにして乾燥させた。次に、各カートリッジの重量を再度測定した。その後、カートリッジをアセトニトリル-メタノール-緩衝液Aの 68:17:15 (v/v/v) 混合液の移動相 O. 2 mL で2回すすぎ、2秒間減圧のままにして乾燥させ、重量を測定した。水および移動相の残留液量を表9に報告する。

表9：死体積

構造	死体積 (μL)	
	水	移動相
フィルターなし	29	20
フィルター+スク リーン	46	33
フィルター+膜	69	51

- 1) 3回測定し、その平均値を表に示す。
- 2) 密度 = 1.0 g/mL.
- 3) 密度 = 0.78 g/mL

表9のデータから、カバー材料によって死体積は増加しないことがわかる。しかし、特定のアッセイに必要な総溶出体積（たとえば、200～400 μL）に比して、死体積は僅かに増加する。

実施例10：流れ時間に対するカバー層の影響

1/1/5 フィルターおよびフィルターの上流にポリプロピレンスクリーンカバー層かTypar™ ウェブカバー層のいずれかを取付けたC-18 Empore™ 7 mm/3 mL 固相抽出ディスクカートリッジに、ヒト血漿1.0 mLと緩衝液A 0.5 mLの溶液を充填した。38.1 cmHg

減圧下での流れ時間を測定した。各配置について12回測定した。

スクリーンカバー層を取付けたカートリッジの平均流れ時間は228秒（範囲：165～305秒）であったが、Typar™ ウェブカバー層を取付けたカートリッジの平均流れ時間は158秒（範囲：140～192秒）であった。この流れ時間から、一般に、Typar™ ウェブカバー層は、濾過能力を有する層をさらに加えることによって、より速い流れ時間を提供し、効率を改善することがわかる。

本発明の範囲および精神から逸脱しない様々な修正および変更が、当業者に明白になるであろう。本発明は本願明細書に記載の例証的実施態様に不当に限定されるものではない。

【図 1】

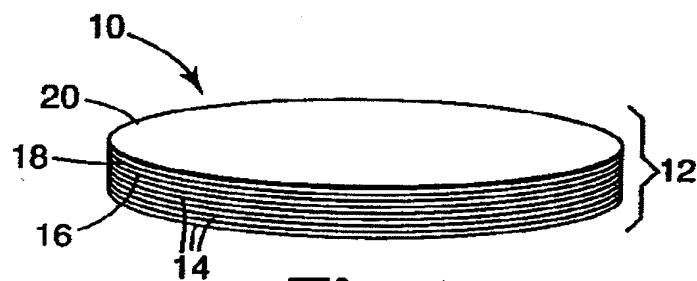


Fig. 1

【図 2】

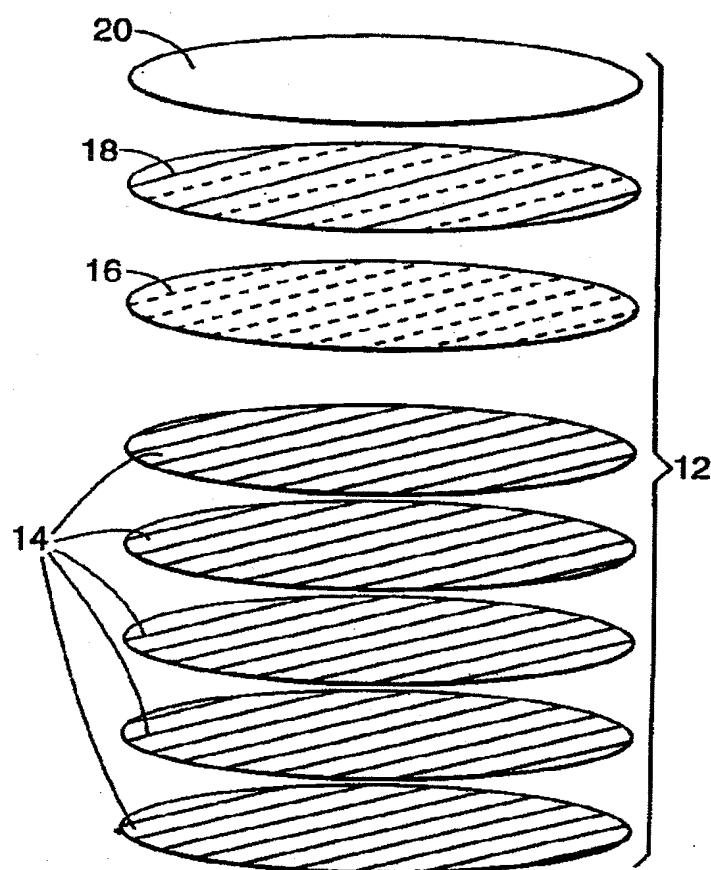


Fig. 2

【図3】

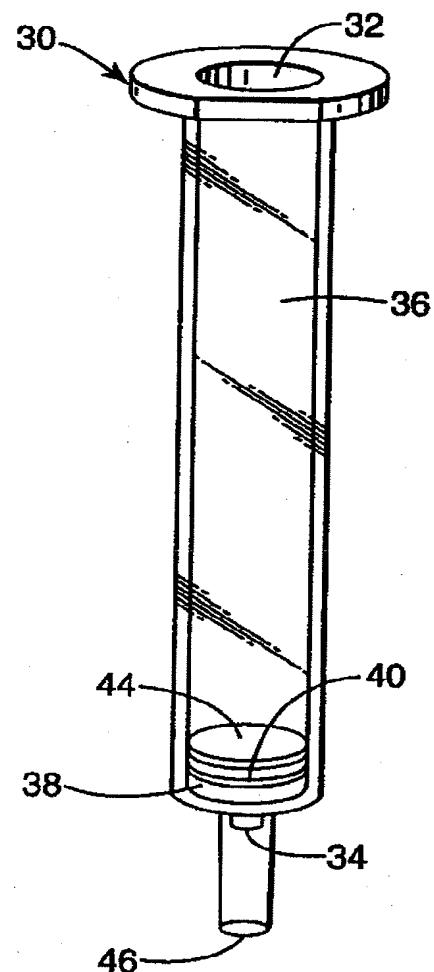


Fig. 3

【図4】

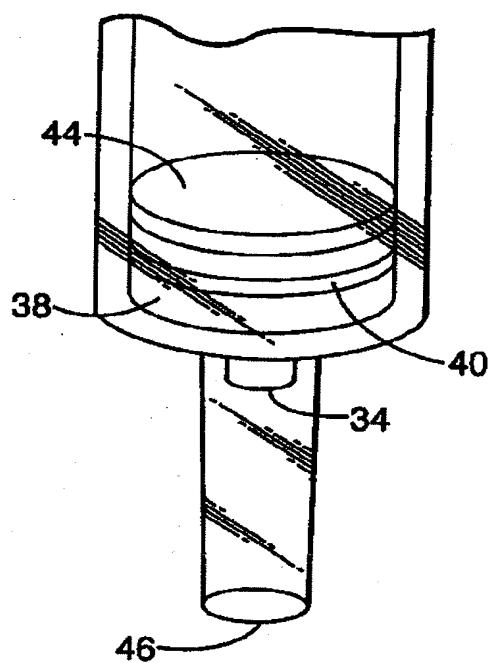


Fig. 4

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In national Application No
PCT/US 95/16545A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 B01D39/08 B01D15/08 C07K1/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 B01D B01J C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP,A,0 370 584 (AKZO N.V.) 30 May 1990 see abstract see column 2, line 14 - column 3, line 28 see column 4, line 24 - line 41 see claims; figure 2 ---	1-3
A	WO,A,93 17774 (PALL CORPORATION) 16 September 1993 see abstract see page 4, line 31 - page 5, line 25 see page 7, line 18 - line 32 see page 9, line 10 - line 32 see page 20, line 3 - page 21, line 13 ---	1-3
A	EP,A,0 391 725 (JOHNSON & JOHNSON MEDICAL, INC.) 10 October 1990 see claims ---	1-3 -/-

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application, but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 May 1996

Date of mailing of the international search report

14-05-1996

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2230 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Telex 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stevnsborg, N

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 95/16545

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO,A,93 11218 (DIAGEN INSTITUT FÜR MOLEKULARBIOLOGISCHE DIAGNOSTIK GMBH) 10 June 1993 see page 1, paragraph 1 - page 7, paragraph 2 see claims; figures ---	1-10
A	EP,A,0 555 706 (SHIMADZU CORPORATION) 18 August 1993 see the whole document ---	1,6,7,10
P,A	WO,A,95 24418 (MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY) 14 September 1995 see the whole document -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 95/16545

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-0370584	30-05-90	NL-A-	8802888	18-06-90
WO-A-9317774	16-09-93	US-A- CA-A- CN-A- US-A-	5258126 2074592 1078404 5360545	62-11-93 86-09-93 17-11-93 01-11-94
EP-A-0391726	10-10-90	AU-B- CA-A- GR-B- JP-A-	5295590 2014052 1001027 2291851	11-10-90 07-10-90 31-03-93 03-12-90
WO-A-9311218	10-06-93	DE-A- WO-A- EP-A- EP-A- JP-T- JP-T-	4139664 9311221 0616638 0616639 7501222 7501223	03-06-93 10-06-93 28-09-94 28-09-94 09-02-95 09-02-95
EP-A-0555706	18-08-93	US-A-	5344613	06-09-94
WO-A-9524418	14-09-95	US-A-	5468847	21-11-95

フロントページの続き

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE,
DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M
C, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG
, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN,
TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, SZ, U
G), AL, AM, AT, AU, BB, BG, BR, B
Y, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES
, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, L
V, MD, MG, MN, MW, MX, NO, NZ, PL
, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,
TJ, TM, TT, UA, UG, UZ, VN

(72) 発明者 ウェスル, デビッド ジェイ.

アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427,
セントポール, ポスト オフィス ボック
ス 33427